

# Utilisation d'un bloc minéralisateur pour la détermination de l'azote total dans les végétaux riches en nitrates (Méthode au fer réduit)\*

G. LAINÉ<sup>(1)</sup>

## RÉSUMÉ

Le dosage de l'azote dans le cotonnier présente quelques difficultés liées à la présence dans certains organes de quantités importantes de chlorures et de nitrates.

La réduction préalable de la fraction nitrique par du fer en milieu sulfurique dilué conduit à une amélioration très sensible des résultats obtenus par la minéralisation Kjeldahl traditionnelle et n'est pas affectée par de hautes teneurs en chlorures.

Cette méthode a été testée ici à l'aide d'un bloc chauffant et d'une unité de distillation semi-automatique. Sa mise en œuvre y est exposée en détail ainsi qu'une étude complète des conditions de digestion.

**Mots clé :** Analyse, plantes, cotonnier, azote total, méthodologie, nitrate.

## INTRODUCTION

La détermination de l'azote total dans un végétal s'effectue généralement par une digestion de type Kjeldahl au cours de laquelle l'azote de la substance est transformé en sulfate d'ammonium au moyen de l'acide sulfurique concentré bouillant, additionné d'un sel et d'un catalyseur.

Les molécules organiques sont d'abord déshydratées et carbonisées. Une partie de l'acide sulfurique est alors réduite par le carbone en anhydride sulfureux. Celui-ci augmente le pouvoir réducteur du milieu réactionnel et permet ainsi la transformation des composés azotés en ammoniac  $\text{NH}_3$  qui est fixé par l'acide en excès sous forme de sulfate d'ammonium (8).

Cependant, une part importante des nitrates et des nitrites présents disparaît alors sous forme d'oxydes azotés (oxyde nitrique  $\text{NO}$  en particulier). Dans le cas où les échantillons à analyser sont riches en ces composés ou bien lors d'essais agronomiques utilisant de l'azote marqué, il devient indispensable de récupérer intégralement l'azote nitrique.

Il a été proposé dans ce but différentes méthodes qui consistent toutes en une réduction préalable des nitrates et des nitrites.

Parmi les récents utilisateurs de blocs minéralisateurs (5, 6, 9, 13, 14, 18, 22, 26, 28, 29), seuls WALL (29) et EASTIN (6) se sont penchés sur ce problème en utilisant la méthode à l'acide salicylique introduite par COPE en 1916. Dans ce cas, les nitrates forment avec l'acide salicylique des composés nitrés qui sont réduits par du zinc ou du thiosulfate de sodium avant minéralisation. Cette méthode, facile à mettre en œuvre, donne d'excellents résultats, à condition

que le rapport (en poids)  $\frac{\text{Cl}^-}{\text{NO}_3^-}$  de l'échantillon ne

dépasse une certaine valeur [0,33 d'après FORD (7) et 0,75 d'après WALL et GEHRKE (29)].

En effet, il se formerait dans le cas contraire du chlorure de nitrosyle  $\text{NOCl}$ , molécule polaire qui n'est pas fixée par l'acide salicylique [SHUEV (23)]. Il en résulte une récupération incomplète des nitrates [REXROAD (21)].

Les organes de cotonnier analysés ici présentent malheureusement un rapport  $\text{Cl}^-/\text{NO}_3^-$  souvent compris entre 1 et 3 (pétiotes, racines...). Nous avons d'ailleurs constaté que la récupération des nitrates était nettement moins bonne pour un échantillon de rapport 2,6 (racines) que pour un échantillon de rapport 2,1 (pétiotes) et nous avons préféré abandonner cette méthode.

\* Article reçu en février 1980.

1. Laboratoire d'Agronomie I.R.C.T., Centre de Recherches du G.E.R.D.A.T., Montpellier.

La méthode de réduction alcaline utilisant l'alliage de DEVARDA, trop compliquée et sujette à d'importantes limitations [BREMNER(4)], n'a pas été retenue.

Les autres méthodes de réduction utilisent le chrome, le nickel Raney ou le fer réduit. Celle-ci est

la plus courante et a notamment permis à GUIRAUD(12) d'obtenir sur rampe minéralisatrice d'excellents résultats à l'aide de nitrates marqués à l'azote 15.

Nous avons donc tenté d'adapter cette méthode à la détermination de l'azote total au moyen d'un bloc minéralisateur.

## PRINCIPE DE LA METHODE

L'utilisation du fer pour réduire les nitrates a été proposée par ULSEN en 1891 (27).

Elle fut par la suite étudiée et modifiée notamment par OLSEN(19), ASHTON(1), FORD(7), BREMNER(4), GEHRKE *et al.*(10, 11), BRABSON(3) et GUIRAUD(12).

En milieu acide dilué, le fer réduit transforme l'azote nitrique et nitreux de l'échantillon en azote ammoniacal.

L'ensemble est minéralisé en milieu sulfurique concentré et l'azote organique est ainsi transformé en sulfate d'ammonium.

Le liquide sulfurique est dilué, puis soumis à une distillation en milieu fortement alcalin, ce qui permet, en titrant l'ammoniac libéré, de connaître la teneur en azote total.

## APPAREILLAGE

### 1. Digestion (fig. 1)

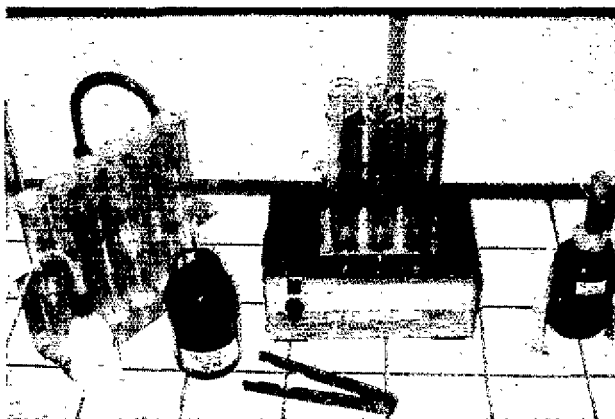


Fig. 1. — Bloc de minéralisation DS 6 avec ses 6 tubes de 250 ml munis d'entonnoirs. A gauche : 6 autres tubes en cours de refroidissement sur leur support.

— Bloc minéralisateur en alliage d'aluminium prévu pour 6 tubes de 250 ml et un thermomètre (Digestion System DS 6-TECATOR, Höganäs, Suède).

— Tubes droits non jaugés ne possédant ni rodage ni épaulement. Veiller à ce que ces tubes soient d'un verre spécialement traité pour résister à l'introduction successive d'acides et d'alcalis bouillants.

— Travailler sous une hotte munie d'un système puissant d'aspiration.

### 2. Distillation (fig. 2)

Unité 1002 (Kjeltec System I - TECATOR), comprenant :

— Un générateur de vapeur (du type électrodes immergées) avec vanne de commande.

— Un système d'adjonction de soude par pompage.

### 3. Titrage

Titrimètre automatique METROHM (pH-mètre E 500 - Impulsomat E 473 - Multi-Dosimat E 415), aimablement mis à notre disposition par le laboratoire de Chimie des sols de l'I.R.A.T.

## ÉTUDE DES CONDITIONS DE DIGESTION (sans réduction préalable)

### 1. Température

L'acide sulfurique bout à 330 °C environ et à cette température, l'attaque est incomplète.

Dès 1899, GUNNING préconisa l'adjonction d'un sel neutre ( $K_2SO_4$ ) pour augmenter la température d'ébullition et accélérer ainsi le processus de minéralisation.

La température  $\theta$  obtenue est à peu près fonction du rapport  $r$  :

$$r = \frac{K_2SO_4 (g)}{H_2SO_4 (ml)}$$

et doit être ajustée assez précisément.

En effet :

— Si  $\theta$  est trop faible, une digestion de plusieurs heures est nécessaire, surtout en présence de composés difficiles à minéraliser.

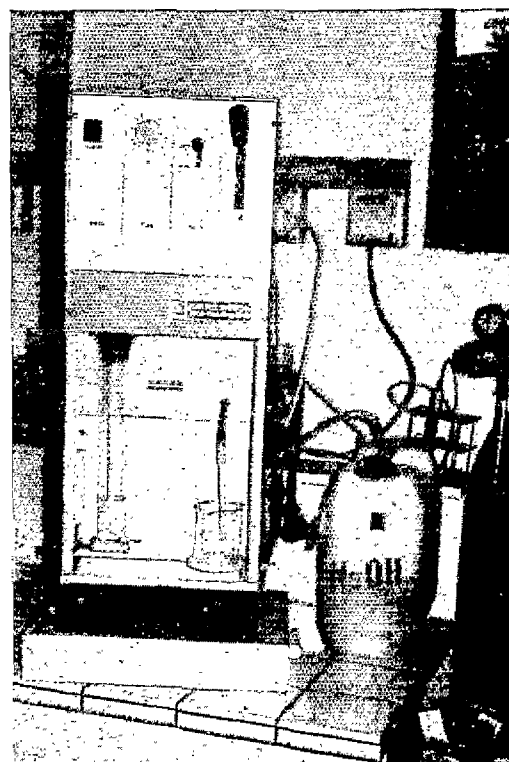
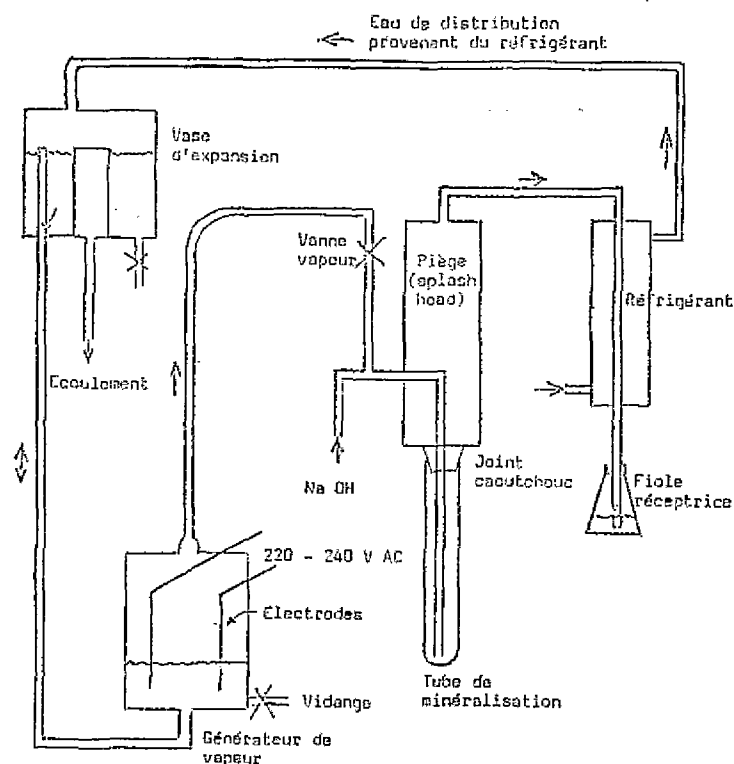


Fig. 2. — Unité de distillation 1002.

— Si  $\theta$  est trop élevée, on risque des pertes d'azote au-dessus de  $410^{\circ}\text{C}$  par décomposition pyrolytique.

Les valeurs de  $r$  utilisées depuis lors ont été très variables (de 0,1 à 3), mais il est maintenant établi [BAKER(2)] que la zone la plus favorable à un bon rendement et à une clarification rapide sans mousse se situe entre 0,5 et 1 (tabl. 1).

Tableau 1. — Influence de  $r$  sur le point d'ébullition et sur le temps de clarification [d'après BAKER(2)]

$\text{K}_2\text{SO}_4$ (g)	$\text{H}_2\text{SO}_4$ (ml)	$r$ (g/ml)	$\theta$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	Décoloration (mn)
0	10	0	329	16
5	10	0,5	344	9
7	7	1	365	5,5
9	6	1,5	388	9,5
10	5	2,0	410	11

Dans sa notice d'utilisation, la maison TECATOR (24) propose une fourchette de 0,58 à 1 (selon les teneurs en matière grasse). Cependant, BRENNER (4) signale qu'au-dessus de 0,8 g/ml, le résidu de digestion a tendance à se solidifier en refroidissant, ce qui nécessite de le réchauffer plus ou moins fortement avant distillation.

Nous avons donc procédé aux premiers essais en utilisant une concentration de 0,75 g/ml. La température du mélange (relevée dans le tube à l'aide d'un thermomètre à graduations internes) atteint  $350^{\circ}\text{C}$  après 15 minutes de digestion, puis oscille entre  $353^{\circ}\text{C}$  et  $355^{\circ}\text{C}$ , ce qui est tout à fait en accord avec les mesures effectuées par BAKER.

## 2. Acide sulfurique

En général, 5 à 6 ml d'acide 36 N sont employés pour minéraliser 200 mg de broyat.

Quelques essais effectués avec 5 ml d'acide concentré ont montré qu'en cas de dépôts carbonés, le lavage des parois du tube n'était pas toujours satisfaisant. Nous avons donc préféré utiliser un léger excès d'acide (8 cc), afin d'améliorer le reflux, mais aussi d'éviter les surchauffes et ainsi obtenir une ébullition plus régulière.

L'emploi de quantités plus importantes n'est pas à recommander, car cela nécessite par la suite l'addition d'un plus grand volume de soude et augmente le risque d'entraînement de particules alcalines lors de la distillation.

## 3. Sulfate de potassium

Si l'on veut obtenir un rapport  $r$  voisin de 0,75, l'emploi de 8 cc d'acide oblige à utiliser 6 g de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ .

#### 4. Catalyseur

Le rôle du catalyseur est d'améliorer l'oxydation de la matière organique, en particulier lorsque la concentration en sel est peu élevée ( $r < 0,5$ ).

MOSSBERG (17) a expérimenté différents catalyseurs à l'aide d'un bloc minéralisateur TECAROR et a montré que l'oxyde mercurique était le plus efficace pour des composés difficiles à minéraliser (lysine). Cependant, pour des échantillons de blé, le sélénium à la dose de 1‰ (7 mg pour 7 g de  $K_2SO_4$ ) donne des résultats à peu près identiques après 45 minutes de digestion.

Nous avons donc opté pour le sélénium, étant donné la toxicité du mercure, sa tendance à former des complexes aminés et le matériel végétal à analyser.

Nous préparons au laboratoire le mélange  $Se-K_2SO_4$  (1 g dans 1 kg), ce qui permet d'introduire ces deux réactifs en une seule manœuvre.

#### 5. Concentration en sel

L'appareil est livré avec un système d'aspiration des vapeurs, afin de pouvoir travailler en un point quelconque du laboratoire.

Mais le maniement de celui-ci étant gênant, en particulier lorsque l'on procède en deux étapes pour effectuer une réduction préalable, nous avons manipulé sous la hotte et supprimé ce système.

Afin d'éviter les pertes par projection, un entonnoir a été placé au-dessus de chaque tube. Ceci a permis également d'obtenir des résultats légèrement plus élevés (tabl. 2) ainsi qu'un précipité de sulfate acide de potassium  $KHSO_4$ , plus facile à dissoudre.

Tableau 2. — Influence des entonnoirs sur le rendement de la digestion

Echantillon	Sans entonnoir	Avec entonnoir
$(NH_4)_2SO_4$ 21,18 mg K	20,69 (97,6 %)	21,18 (100 %) 21,32 (100,6 %)
N° 23	42 000 mg/kg 42 000 mg/kg 42 210 mg/kg	43 260 mg/kg 44 030 mg/kg 43 400 mg/kg
N° 14	42 000 mg/kg	42 000 mg/kg

Ceci est probablement dû au fait qu'il y a moins de pertes acides et que  $r$  reste voisin de 0,75. Par

contre, sans entonnoir,  $r$  s'écrit  $\frac{6}{8-x}$ ,  $x$  étant la perte d'acide. Afin de vérifier que cette augmentation de la concentration en sel était à l'origine de cette baisse de rendement, on a minéralisé avec entonnoir l'échantillon n° 23 (tabl. 3).

Tableau 3. — Influence de la concentration  $r$  sur le rendement

Conditions	$r$	N (mg/kg)
6 g $K_2SO_4$ - 8 ml $H_2SO_4$ 36 N	0,75	43 400
6 g $K_2SO_4$ - 6 ml $H_2SO_4$ 36 N	1	40 900
5 g $K_2SO_4$ - 5 ml $H_2SO_4$ 36 N	1	40 040

Les résultats obtenus sont nettement moins bons avec  $r > 0,75$  et, autre inconvénient, la prise en masse de sulfate est plus importante.

Des essais supplémentaires effectués avec  $r < 0,75$  ont également fourni des résultats plus faibles, probablement dus au fait que la température étant alors plus basse, la durée de minéralisation (45 minutes) devenait insuffisante.

Nous avons donc choisi d'utiliser le rapport 0,75, qui permet d'obtenir une minéralisation efficace en 45 minutes.

L'utilisation d'entonnoirs placés au-dessus des tubes permet, par ailleurs, de limiter le dégagement des vapeurs acides, ce qui présente le triple avantage d'améliorer le reflux, de réduire les condensations à l'intérieur de la hotte et de maintenir la concentration en sel à peu près constante autour de la valeur choisie.

Dans ces conditions, il se produit néanmoins une légère prise en masse lors du refroidissement dont la dissolution s'effectue très facilement par léger chauffage. À noter que, si l'adjonction d'eau est effectuée lorsque les tubes sont encore tièdes, on minimise encore ce phénomène.

### ÉTUDE DES CONDITIONS DE DIGESTION (avec réduction préalable)

On introduit alors une nouvelle phase au cours de laquelle on réduira l'azote des degrés V et III à l'aide de fer. Cette réduction s'effectuant en milieu

acide dilué, nécessite l'introduction d'une quantité supplémentaire d'acide  $H_2SO_4$ . La valeur de  $r$  va donc changer.

Or, nous avons précédemment obtenu de bons résultats avec une concentration en sel voisine de 0,75 : il est donc nécessaire de déterminer les doses de réactifs à employer, afin d'opérer correctement sans trop s'écarter de cette valeur.

### 1. Qualité du fer

Le fer utilisé a été longtemps du fer réduit par voie électrolytique.

BRABSON (3) a remarqué que le fer réduit par l'hydrogène agissait plus lentement, mais plus efficacement ; GUIRAUD (12) a également obtenu de bons résultats.

Nous avons donc utilisé du fer réduit par l'hydrogène, en prenant soin de démarrer la réduction en fin d'après-midi, de façon que la réaction se poursuive pendant la nuit. Il est recommandé d'employer toujours un produit de la même origine et de même lot de fabrication, afin de travailler à granulométrie constante.

### 2. Quantité de fer

OLSEN (19) et GEHRKE (10) utilisent 5 g pour 40 mg d'azote nitrique. PUCHER (20) signale qu'en dessous de 10 mg d'azote nitrique dans l'échantillon, 2 g sont suffisants et que jusqu'à 40 mg, l'emploi de 3 g donne des résultats très corrects [ce qui a été confirmé plus tard par BRABSON (3)].

Or, 200 mg de pétiotes de cotonnier contiennent au plus 7 mg d'azote nitrique (le plus souvent on ne

dépasse pas 5 mg). Nous avons donc choisi d'utiliser 1,5 g de fer. Quelques essais effectués avec 3 g n'ont apporté aucune amélioration sur le plan des résultats et ont conduit à la formation d'un précipité plus difficile à redissoudre.

### 3. Normalisation de l'acide dilué

D'après GEHRKE (10), on peut obtenir une réduction complète des nitrates si la normalité de l'acide sulfurique se situe entre 3 et 11,6.

Tableau 4. — Récupération de 41,27 mg d'azote nitrique après réduction par 5 g de fer (d'après GEHRKE)

Normalité de la solution	% récupération
1,0	97,3
2,0	98,1
3,0	99,8
4,0	99,7
5,1	99,9
6,8	99,8
9,8	100,1
11,6	99,9
12,7	99,6
13,7	95,8
14,4	73,7
14,9	54,0

Tableau 5. — Influence des conditions de réduction sur la récupération des nitrates

Conditions de réduction		Azote nitrique introduit ( $\text{NaNO}_3$ ou $\text{NH}_4\text{NO}_3$ *)	Récupéré	% récupération nitrates
1,5 g Fe 8 cc $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 18 N	avec papier	4,35 *	2,09 *	48 *
		7,97	3,90	48,9
		8,96	4,27	47,6
1,5 g Fe 12 cc $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 12 N	sans papier	10,13	9,22	91
		9,05	8,33	92
	avec papier	8,7	6,72	77
1,5 g Fe 14 cc $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 9 N		9,20	6,72	73
		8,76	6,69	76
	sans papier	9,55	9,08	95
1,5 g Fe 20 cc $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 6 N		9,38	8,82	94
	avec papier	9,65	9,25	95,8
		9,88	9,04	91,5
1,5 g Fe 15 cc $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 6 N	avec papier	10,59	10,37	97,9
		8,96	8,80	98,2
		9,61	9,52	99
		9,35	9,14	97,7
		5,89 *	5,94 *	100,8 *



Afin d'éviter toute perte le long des parois du tube, nous avons introduit la matière végétale à l'intérieur d'une feuille de papier à cigarette. Cette technique est d'ailleurs indispensable si l'on veut utiliser ultérieurement des matras ou des tubes à épaulement. Il fallait donc vérifier les résultats de GEHRKE, car la réduction se fait plus difficilement dans la mesure où la matière est prisonnière du papier.

Le tableau 5 donne les résultats obtenus avec des quantités connues de nitrate de sodium et de nitrate d'ammonium, minéralisés avec et sans papier après réduction dans des solutions sulfuriques de différentes normalités.

Les doses de réactifs employées pour la réduction sont mentionnées dans le tableau, mais la minéralisation a toujours été effectuée avec 6 g de sulfate de potassium et 8 cc d'acide sulfurique concentré.

Les résultats obtenus avec  $H_2SO_4$  6 N sont donc satisfaisants. On vérifie au passage que 1,5 g de fer sont suffisants pour réduire 10 mg d'azote nitrique.

Nous n'avons pas cherché à utiliser de l'acide plus dilué, car il en aurait résulté l'utilisation de plus larges volumes de solution et, par suite, un allongement de la phase d'évaporation (il est en effet indispensable d'évaporer totalement l'eau avant de minéraliser, si l'on veut éviter l'apparition de mousse).

De plus, avec 6 g de sulfate de potassium et 20 ml d'acide sulfurique 6 N, la concentration en sel est de  $r = \frac{6}{8 + 3,3} = 0,53$ , ce qui est assez éloigné de 0,75.

Nous avons donc préféré, à ce stade, ajuster la valeur de  $r$  en travaillant sur de véritables échantillons végétaux.

#### 4. Quantité d'acide sulfurique

Lors de ces essais effectués en vue d'approcher la valeur 0,75, nous avons constaté, pour une même concentration  $r$  de départ, que la prise en masse était plus ou moins conséquente selon que l'on avait travaillé avec ou sans fer.

##### • Exemple :

Si l'on utilise 9 g de  $K_2SO_4$  et 8 ml d' $H_2SO_4$  36 N après une réduction en présence de 24 ml  $H_2SO_4$  6 N (équivalent à 4 ml  $H_2SO_4$  36 N), on peut écrire :

$$r = \frac{9}{8 + 4} = \frac{9}{12} = 0,75.$$

La dissolution du précipité s'effectue alors plus difficilement qu'avec 6 g  $K_2SO_4$  et 8 ml  $H_2SO_4$  36 N sans réduction préalable, où  $r$  ( $= \frac{6}{8} = 0,75$ ) possède la même valeur.

Il est donc probable qu'après réduction, le rapport  $r$  soit modifié par suite d'une consommation d'acide.

Ceci rejoint les observations de BRENNER (4) qui signale une consommation de 1,5 ml d'acide 36 N par g de fer introduit.

En supposant que le produit de la digestion soit du sulfate ferrique, l'emploi de 1,5 g de fer entraîne une consommation de  $1,5 \times 1,5 = 2,25$  ml d'acide sulfurique concentré.

Dans l'exemple précédent,  $r$  devient, en fin de réaction :

$$r = \frac{9}{8 + 4 - 2,25} = 0,92$$

ce qui explique que le précipité soit devenu très difficile à dissoudre.

Par contre, si l'on utilise 6 g  $K_2SO_4$  et 8 ml  $H_2SO_4$  36 N après une réduction en présence de 1,5 g de fer et de 20 ml  $H_2SO_4$  6 N ( $\approx 3,3$  ml  $H_2SO_4$  36 N), on peut écrire, en fin de réaction :

$$r = \frac{6}{8 + 3,3 - 2,25} \approx 0,66$$

(au lieu de la valeur 0,53 obtenue précédemment).

L'emploi de différentes quantités d'acide 6 N a permis de faire varier  $r$  autour de 0,75.

Les résultats sont consignés dans le tableau 6 et concernent deux échantillons pétiolaires ( $n^\circ$  18 et 26) riches en nitrates ( $\approx 15\,000$  ppm d'azote nitrique) ainsi qu'un échantillon foliaire ( $n^\circ$  23) très pauvre en nitrates ( $\approx 800$  ppm).

Ceci nous a conduit à formuler quelques remarques :

a) On constate que les meilleurs résultats sont obtenus en employant 15 ml d'acide sulfurique 6 N ( $r = 0,74$ ) et ceci pour les trois échantillons.

Parallèlement, des quantités connues de nitrates soumises aux mêmes conditions conduisent à une récupération de ceux-ci au moins aussi bonne qu'avec 20 ml d'acide sulfurique 6 N (voir tabl. 5).

Nous utiliserons donc pour la phase de réduction :  
15 ml d'acide sulfurique 6 N, et  
1,5 à 1,6 g de fer réduit  
(pour 200 mg de matière végétale).

b) Pour compenser exactement cet apport d'acide 6 N (équivalent à 2,5 ml d'acide concentré) et ainsi minimiser les variations des témoins zéro (blancs de minéralisation) entre les deux techniques, l'idéal serait d'utiliser 1,65 g de fer réduit (1,65 g consomment 2,5 ml d'acide concentré).

Cependant, ce calcul très théorique se heurte à plusieurs difficultés pratiques :

• Il n'est pas question de peser exactement 1,65 g de fer à chaque analyse. L'emploi d'une mesurette, bien qu'indispensable, ne permet pas d'opérer avec une telle précision ; il importe donc d'apporter un soin particulier à cette opération, afin d'obtenir la meilleure reproductibilité possible ( $\pm 0,1$  g).

Tableau 6. — Influence de la quantité d'acide sulfurique 6 N sur la récupération de l'azote total

Conditions		$r$ $\pm 0,01$	Teneur en azote total (ppm)		
réduction	digestion		18	26	23
1,6 g Fe 20 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 6 N	6 g K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 36 N	0,67	30 500	31 990	39 800
1,6 g Fe 17 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 6 N	6 g K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 36 N	0,71	32 130		40 950
1,6 g Fe 15 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 6 N	6 g K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 36 N	0,74	32 900	33 320	43 750
1,6 g Fe 10 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 6 N	6 g K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 36 N	0,83	31 780	30 240	41 900
1,6 g Fe 15 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 6 N	6 g K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 6 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 36 N	0,98	31 010	30 380	41 200

• La solubilité du sulfate ferrique dans l'acide sulfurique concentré n'est pas tout à fait nulle, ce qui peut influencer légèrement sur la concentration en sels. À ce sujet, nous avons déjà signalé que, pour une valeur de  $r$  identique, le « cake » de KHSO<sub>4</sub> était plus gênant avec 3 g de fer qu'avec 1,6 g.

• Les pertes d'acide sulfurique par évaporation sont difficiles à estimer et ne sont pas forcément identiques, selon que l'on opère avec ou sans réduction préalable.

c) L'utilisation d'acide sulfurique 6 N nécessite d'opérer dans des conditions très précises. De plus, la phase d'évaporation allonge considérablement la durée de la manipulation. Il est donc conseillé, dans la mesure du possible, de traiter les échantillons de deux façons différentes, selon leur teneur en nitrates. Les graines de cotonnier, par exemple, étant généralement très pauvres en nitrates ( $\approx 500$  ppm d'azote nitrique), doivent être minéralisées sans réduction préalable.

d) Le calcul de  $r$  est effectué en supposant que la seule consommation d'acide est due au fer ajouté pour réduire les nitrates. En réalité, il se produit une consommation d'acide supplémentaire par l'échantillon végétal lui-même (protéines, hydrates

de carbone, matière grasse) qui modifiera légèrement la concentration finale en sel.

Or, en théorie, celle-ci doit être exactement identique à celle du témoin zéro (Tm).

Ainsi, qu'il y ait réduction préalable ou non, il serait en toute rigueur nécessaire de déterminer pour chaque échantillon la quantité d'acide ainsi perdue, afin de modifier la composition du mélange d'attaque.

D'après MIDDLETON et STUCKEY (16):

1 g de protéines consomme 4,9 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 36 N;  
1 g d'hydrates de carbone 4,0 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 36 N;  
1 g de matières grasses 9,7 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 36 N.

La consommation d'acide qui en résulte est donc très variable, selon les organes étudiés. Cependant, elle ne dépasse pas 0,3 ml pour les échantillons les plus riches en protéines et nous n'en avons pas tenu compte en pratique.

Par contre, dans le cas particulier des graines de cotonnier, la présence de 20 à 25 % de matière grasse entraîne, à elle seule, la disparition de 0,5 ml d'acide, ce qui porte la consommation totale à une valeur voisine de 0,8 ml. Il est donc prudent, pour ce type d'organe, de minéraliser en présence de 6 g de sulfate de potassium et de 8,8 ml d'acide sulfurique concentré.

## DISTILLATION - TITRATION

Après avoir dissous le minéralisat avec de l'eau distillée, le tube est adapté directement sur l'appareil d'entraînement à la vapeur. On ajoute un excès de soude et on fait barboter la vapeur d'eau dans le tube. L'ammoniac entraîné est piégé dans un bécher contenant 10 ml d'acide sulfurique 0,1 N. La quantité d'acide n'ayant pas réagi est déterminée par acidimétrie avec de la soude 0,1 N.

Ce mode de titrage en retour permet d'éviter la présence d'indicateurs colorés dans le distillat qui s'avère gênante pour les analyses effectuées avec le spectromètre de masse.

Les premiers essais ont été réalisés avec une microburette et un pH-mètre portatif, mais la neutralisation étant rendue très incertaine par la présence

de gaz carbonique, l'opérateur se trouvait souvent dans l'embarras pour apprécier la fin du dosage. L'utilisation d'un titrimètre automatique, en éliminant le côté subjectif dû au manipulateur, nous a permis d'obtenir des résultats plus reproductibles.

### 1. Présence du $\text{CO}_2$

La valeur des « blancs » de distillation croissant régulièrement avec le volume de distillat recueilli, nous avons procédé à la même expérience en portant celui-ci à l'ébullition (fig. 3).

Le fait d'obtenir des résultats tout à fait comparables après ébullition montre bien que la présence de  $\text{CO}_2$  est à l'origine des titrages fuyants et imprécis.

### 2. Origine du $\text{CO}_2$

Dans une première série d'expériences, nous n'avons utilisé, pour nous placer en milieu alcalin, qu'un excès de soude assez moyen (45 cc  $\text{NaOH}$  9 N).

Nous avons alors constaté que la valeur des témoins zéro  $T_m$  (blancs de minéralisation) variait selon que l'on avait introduit plus ou moins d'acide sulfurique pour la minéralisation.

Ainsi (moyenne de plusieurs mesures):

avec 6 ml $\text{H}_2\text{SO}_4$ 36 N	$T_m = 10,65$
8 ml $\text{H}_2\text{SO}_4$ 36 N	$T_m \approx 10,80$
9 ml $\text{H}_2\text{SO}_4$ 36 N	$T_m \approx 11,10$

Ces variations sont vraisemblablement dues à la libération de gaz carbonique qui se produit lors de la neutralisation de l'acide par de la soude carbonatée.

Il est probable également qu'un plus grand excès de soude améliore le piégeage du  $\text{CO}_2$ . La même manipulation effectuée avec une quantité de soude deux fois plus importante nous a conduits, en effet, à l'obtention de valeurs plus faibles (de l'ordre de 10,40). Ainsi, cet énorme excès de soude ne permet pas de piéger tout le gaz carbonique présent, ce qui confirme sa partielle carbonatation.

Par ailleurs, de nombreux essais réalisés sur des « blancs de distillation » (75 cc  $\text{H}_2\text{O}$  + 45 cc  $\text{NaOH}$  9 N) ont donné des valeurs également voisines de 10,40. Ainsi, une large part du  $\text{CO}_2$  provient de l'eau elle-même puisque, dans ce dernier cas, la soude ne réagit pas avec l'acide sulfurique et par conséquent ne libère pas de gaz carbonique.

### 3. Conséquences pratiques

L'ébullition du distillat est une opération qui entraîne une perte de temps appréciable et qui peut occasionner des pertes par projection. De plus, on augmente l'hydrolyse des sels ammoniacaux si on ne refroidit pas avant de titrer. Il est donc nécessaire, pour obtenir des résultats précis et reproductibles, d'éliminer toute influence de l'acide carbonique dans le distillat.

Le trouble le plus grave apporté au titrage est dû à la conception même de l'appareillage TECATOR qui utilise l'eau de distribution pour alimenter la chaudière. Il en résulte une libération continue de  $\text{CO}_2$  et un dépôt de calcaire dans le générateur. Il s'avère donc indispensable de modifier ce système d'alimentation :

- soit en utilisant de l'eau distillée rigoureusement exempte de  $\text{CO}_2$ , en installant un circuit d'eau supplémentaire ;

- soit en intercalant un système épurateur à l'eau de chaux (avec vidange du calcaire), si l'on veut continuer à utiliser un seul circuit.

Un certain nombre de précautions doivent cependant être observées pour minimiser l'influence du  $\text{CO}_2$ , en particulier si cet aménagement n'a pu être réalisé.

a) Il est préférable d'employer une lessive de soude décarbonatée en utilisant la propriété que possède  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  d'être pratiquement insoluble dans une solution très concentrée de soude [BREMNER (4)]. Bien fermer le récipient pendant le refroidissement de la solution, celle-ci étant alors très avide de  $\text{CO}_2$  atmosphérique.

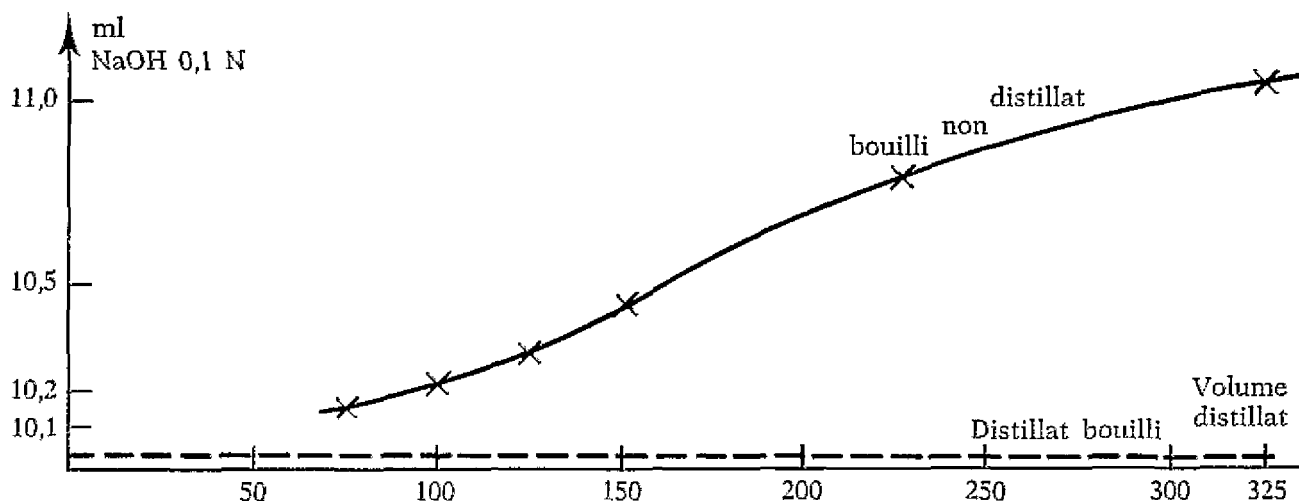


Fig. 3. — Influence du volume de distillat sur la valeur du témoin de distillation.



On conserve la soude dans un récipient en polyéthylène (non attaqué par NaOH) protégé du  $\text{CO}_2$  de l'air. Ce procédé n'est pas utilisable si l'on veut employer KOH, car le carbonate de potassium est relativement soluble dans la potasse [KOLTHOFF (15)].

b) Utiliser toujours un large excès de soude (50 ml NaOH 12 N, par exemple). On augmentera ainsi le piégeage du  $\text{CO}_2$ , mais également la constante de volatilité de l'ammoniacque [TEXTIER (25)].

Veiller également à ce que cette quantité de soude soit constante, que l'on procède ou non à une réduction préalable des nitrates. En effet, la quantité d'acide sulfurique concentré étant dans les deux cas voisine de 8 ml (déduction faite de la consommation d'acide due au fer réduit), on obtiendra ainsi un excès de soude identique et une variation minimum des témoins  $T_m$  (voir « origine du  $\text{CO}_2$  »). Ne jamais utiliser le fond du réservoir de soude et manœuvrer la levier de commande avec précautions (attention aux coudes de la tuyauterie plastique).

c) On doit apporter un soin particulier au stockage de la solution alcaline decinormale en protégeant le réservoir du titrimètre par un tube à chaux sodée renouvelée périodiquement.

Procéder à une ou deux titrations « à blanc » avant chaque série d'analyses, pour éliminer toute trace de carbonatation.

d) Avant toute série de manipulations, effectuer une ou deux distillations « à blanc ». Ceci permet à l'appareil de se débarrasser de ses impuretés, mais surtout d'atteindre son équilibre de fonctionnement.

Il est en effet indispensable d'obtenir en un temps donné, un volume constant de distillat (150 cc en 8 minutes, par exemple). Assurer également une réfrigération convenable pour que la température du distillat soit constante et voisine de  $20^\circ\text{C}$ .

e) L'obtention d'une capacité de distillation constante est également conditionnée par un nettoyage fréquent du générateur de vapeur.

Il faut, pour cela, vidanger celui-ci chaque soir et surtout procéder très régulièrement à la dissolution

du calcaire déposé sur les électrodes (trempage une nuit dans  $\text{CH}_3\text{COOH}$  25 %). Le carbonate de calcium étant très mauvais conducteur de la chaleur ne tarde pas, en effet, à modifier sensiblement le débit de vapeur.

f) Nous avons constaté, après un certain nombre de manipulations, la présence de particules métalliques à l'intérieur du réfrigérant. Nous n'avons pas cherché à en préciser l'origine (débris d'électrodes ou de fer utilisé pour la réduction), mais ce phénomène risque de fausser largement les dosages.

Le piège à particules (« splashhead » intercalé entre le tube et le réfrigérant), qui est le siège d'un dépôt important, présente donc un intérêt évident, mais ne résout pas complètement le problème des entraînements vésiculaires.

Une rétention efficace serait obtenue par adjonction d'une colonne rectificatrice avec matériel de remplissage. Ceci présenterait, en outre, l'avantage d'enrichir la vapeur en ammoniac, ce qui permettrait de recueillir un volume de distillat plus faible et donc moins contaminé par le gaz carbonique.

Il faut cependant noter à l'actif de l'appareillage TECATOR que la forme étroite des tubes permet à la vapeur de traverser une hauteur importante de liquide et par conséquent de s'enrichir davantage en ammoniac que dans un matras ou un simple ballon.

Un trop grand volume de liquide n'est cependant pas à recommander, car cela risquerait de favoriser les entraînements.

On peut, dans cette optique, tenter de minimiser cette quantité :

- en n'utilisant, pour dissoudre le minéralisé, que 50 ou 60 ml d'eau distillée ;
- en réduisant le volume de soude ajouté par l'emploi d'une solution plus concentrée ;
- en choisissant la durée de distillation la plus faible compatible avec une récupération totale de l'ammoniac.

La pratique de deux distillations consécutives avec le même tube barboteur est évidemment à proscrire.

## TECHNIQUE UTILISÉE

### 1. Réactifs

- Fer en poudre p.a. réduit par l'hydrogène.
- Acide sulfurique pour analyses 36 N.
- Acide sulfurique 6 N préparé par dilution de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  36 N.
- Sélénium en poudre 99 % } mélangés au mortier  
sulfate de potassium pour } dans la proportion de  
analyses } 1/1 000.

- Antimousse rhodorsil 426 (PROLABO), à n'employer qu'en cas de bouillonnement.
- Hydroxyde de sodium en solution 12 N préparé à partir de soude en pastilles pour analyses.
- Acide sulfurique 0,1 N en solution prête à l'emploi.
- Hydroxyde de sodium 0,1 N en solution prête à l'emploi.

## 2. Mode opératoire

### a) Echantillons riches en nitrates

- Sécher la matière végétale finement broyée 16 heures à 70 °C.
- Refroidir au dessiccateur.
- Peser 200 mg (contenant 1 à 10 mg d'azote) de matière bien homogénéisée dans une feuille de papier à cigarette suffisamment large, que l'on introduit après pliage dans le tube de minéralisation.
- Ajouter une mesure de fer réduit (1,6 g  $\pm$  0,1 g) n'ayant pas été au contact de l'air, puis 15 ml d'acide sulfurique 6 N, à l'aide d'un distributeur manuel.
- Agiter pour établir un contact optimal (l'idéal serait de disposer d'un homogénéiseur; et laisser la réduction se poursuivre pendant une nuit.
- Le lendemain matin, porter les tubes dans le bloc froid et augmenter très régulièrement la température pour éliminer totalement l'eau (en particulier dans le tube témoin). On peut s'en assurer en surveillant les traces de condensation sur la partie supérieure des tubes.

Cette opération demande environ 1 h 30 mn et nécessite de porter la température du bloc jusqu'à 190 °C environ [division (4)].

C'est à ce niveau que l'absence de régulation se fait le plus cruellement sentir, l'opérateur étant mobilisé en permanence pour assurer un réglage progressif de la chauffe.

- Sortir les tubes du bloc et porter la température à 430 °C, pendant que les tubes refroidissent.
- Ajouter 6 g du mélange catalyseur ( $K_2SO_4/Se$ ), puis 8 à 9 ml d'acide sulfurique 36 N à l'aide d'un distributeur (selon la teneur en matière grasse...).
- Agiter avec précautions, disposer un entonnoir au sommet des tubes et porter ceux-ci dans le bloc.
- Après 45 mn de déminéralisation, sortir les tubes et les déposer (doucement!) sur leur support métallique.
- Quand les tubes sont encore tièdes, rincer avec précautions les entonnoirs à l'eau distillée. Recueillir les eaux de rinçage dans le tube. S'il se produit une prise en masse, réchauffer légèrement en évitant les projections puis, après refroidissement, compléter à 70 ml avec de l'eau distillée.

- Pipeter 10 ml d'acide sulfurique N/10 dans un flacon récepteur (bêcher ou erlenmeyer) que l'on placera à la suite du réfrigérant en veillant à ce que le tube de sortie trempe correctement.
- Adapter le tube sur l'appareil à distiller que l'on aura pris soin de mettre en marche assez longtemps à l'avance pour obtenir un débit régulier et un distillat froid.
- Ajouter une dose de soude 12 N (50 ml) et ouvrir la vanne vapeur. Distiller jusqu'à l'obtention de 150 ml (8 mn environ). Retirer la fiole réceptrice et fermer le circuit de vapeur pour changer de tube.
- Titrer en retour l'acide sulfurique 0,1 N resté libre par de la soude 0,1 N (pH-mètre et microburette automatiques).

### b) Echantillons pauvres en nitrates (méthode classique)

Introduire dans le tube :

200 mg de matière végétale ;

6 g de mélange  $K_2SO_4/Se$  ;

8 à 9 ml d'acide sulfurique 36 N (selon la teneur en matière grasse) ;

etc.

Disposer les tubes dans le bloc préchauffé à 430 °C, puis opérer comme précédemment.

Dans les deux cas, on procédera aux mêmes opérations avec un ou deux témoins Tm.

### c) Calculs

Soit x le résultat du titrage de l'échantillon (en ml de soude 0,1 N).

Soit b le résultat du titrage du « blanc Tm » (en ml de soude 0,1 N) ;

(x — b) ml d'acide ont donc été consommés.

1 ml d'acide 0,1 N contient 0,1 meq d'acide ;  
ce qui correspond à 0,1 meq d'azote ;  
c'est-à-dire à 1,4 mg d'azote N.

Il y a donc (x — b)  $\times$  1,4 mg d'azote dans la prise d'essai de 200 mg.

$$\text{Soit } (x - b) \times 1,4 \times \frac{1000}{0,2} \text{ mg/kg ;}$$

$$(x - b) \times 7,10^3 \text{ ppm.}$$

## RÉSULTATS

### 1. Précision des mesures

L'une des principales difficultés réside dans l'obtention de témoins Tm reproductibles. Ceux-ci n'ont pu être définis qu'avec une incertitude absolue de 0,05 ml (pour 10 ml d'acide sulfurique 0,1 N). Ce qui correspond à une erreur absolue de 350 ppm sur les teneurs en azote total.

Il en résulte une erreur relative variant de 0,7 %

à 10 % pour des quantités d'azote s'échelonnant de 50 000 à 3 500 ppm. Dans ces conditions, même pour les teneurs les plus élevées, les autres causes d'erreur deviennent assez souvent négligeables, comme le montrent les résultats du tableau 7.

Ceci montre bien l'intérêt qu'il faut accorder à l'élimination du gaz carbonique et que tout le soin apporté aux opérations de digestion reste vain si le titrage est imprécis.

Tableau 7. — *Essais de reproductibilité des analyses*

Echantillon	Moyenne	Ecart-type	Coefficient variation
A	41 450	640	1,5
B	43 600	327	0,75
C	35 470	292	0,82
D	15 360	488	3,17
E	44 520	556	1,25
F	41 740	214	0,5

## 2. Comparaison des méthodes

Les essais ont porté sur différents organes du cotonnier (racines, limbes, pétioles, feuilles, tiges et branches; carpelles, coton-graine) dont les teneurs en nitrates ont été déterminées par distillation ( $\text{MgO} +$  alliage d'Arnd, après élimination de l'azote ammoniacal).

Les résultats obtenus sur bloc chauffant par la méthode classique et par la méthode au fer réduit (voir « mode opératoire ») sont consignés dans le tableau 8.

La notation « s'applique à des variations dans les teneurs en azote total inférieures à 1 000 ppm, ce qui, d'après les résultats précédents, correspond à l'erreur de manipulation ( $\pm 500$  ppm) et n'a donc aucune signification.

Ainsi, nous constatons que :

a) La méthode utilisant la réduction préalable conduit à une amélioration des résultats en azote total très variable puisqu'en relation avec les teneurs en nitrates. Elle peut atteindre cependant 20 % et même 40 % (pétiole n° 18).

b) La quantité de nitrates perdus par la méthode classique varie grossièrement de 50 % à 100 % (en supposant que seul l'azote nitrique est à l'origine des différences enregistrées). Il semble donc que ces composés disparaissent plus ou moins facilement, selon les échantillons et les organes (voir « tiges et branches », n° 21 et 39; « capsules », n° 93).

c) Dans le cas des échantillons dont les teneurs en nitrates sont inférieures à 2 000 ppm, il est difficile de conclure, puisque les variations obtenues sont égales à  $\pm$  « (cas des limbes).

Tableau 8. — *Comparaison avec la méthode classique (sans réduction des nitrates)*

Echantillon	Organe	N-NO <sub>3</sub> - ppm	N total (ppm)		Différence entre les 2 méthodes A — B	Gain en N <sub>r</sub> % par A	Perte en NO <sub>3</sub> - % par B
			avec réduction A	sans réduction B			
2	Racines	4 800	20 650	17 010	3 640	21,4	76
3	Racines	6 000	22 100	19 000	3 100	16,3	52
13	Limbes	1 750	41 230	39 970	1 260	3,1	72
15	Limbes	1 700	43 900	43 500	400 = «	—	—
23	Limbes	1 800	43 750	43 250	500 = «	—	—
24	Limbes	2 200	40 740	40 180	560 = «	—	—
17	Pétioles	11 300	27 500	22 700	4 800	21,1	42,5
18	Pétioles	13 600	32 900	23 500	9 400	40	69
26	Pétioles	12 700	33 320	25 400	8 520	33,5	67
21	Tiges et branches	2 900	26 900	24 000	2 900	12,1	100
39	Tiges et branches	3 100	23 940	21 410	2 530	11,8	81,6
55	Tiges et branches	3 000	18 900	16 900	2 000	11,8	66,6
81	Tiges et branches	1 700	13 160	12 600	560 = «	—	—
125	Tiges et branches	500	10 000	10 300	— 300 = «	—	—
69	Feuilles	1 600	33 500	33 250	250 = «	—	—
77	Feuilles	500	31 700	31 000	700 = «	—	—
78	Feuilles	1 000	33 950	34 580	— 630 = «	—	—
74	Capsules	500	32 500	32 000	500 = «	—	—
75	Capsules	2 500	38 000	36 120	1 880	5,2	75,2
84	Capsules	500	34 000	34 230	— 230 = «	—	—
93	Capsules	2 700	35 980	32 970	3 010	9	> 100

## CONCLUSION

La détermination de l'azote total dans les végétaux avec réduction préalable des nitrates et des nitrites par le fer réduit est particulièrement intéressante dans le cas du cotonnier, puisqu'elle n'est pas affectée par la teneur en chlorure des organes et qu'elle permet, pour des échantillons riches en nitrates (> 2 000 ppm), d'améliorer sensiblement les résultats obtenus par la méthode classique.

Sa mise en œuvre à l'aide d'un bloc chauffant présente l'avantage de réduire la durée de la minéralisation proprement dite, mais conduit par ailleurs à une perte de temps appréciable, étant donnée la nécessité :

- d'évaporer l'eau en excès ajoutée lors de la réduction par l'intermédiaire de l'acide dilué (1 h 30 mn) ;
- de laisser refroidir le bloc après chaque digestion, pour procéder à cette évaporation (2 h 30 mn).

Ainsi, il sera préférable pour des analyses en série de choisir un bloc qui permettra de traiter un très grand nombre d'échantillons et de pouvoir y inclure régulièrement un ou deux témoins.

Dans le cas où l'on possède déjà un appareil de faible capacité, l'utilisation en routine de cette méthode nécessitera l'acquisition d'un second bloc identique au premier qui sera affecté à la minéralisation et dont la température restera constante.

L'unité de distillation normalement prévue pour cette chaîne de dosage permet d'utiliser comme barboteur le tube de minéralisation, ce qui apporte une économie de temps importante et supprime les risques de pertes par transvasement.

Néanmoins, il est impératif de revoir la conception de ce matériel au niveau de l'alimentation en eau du générateur de vapeur, afin de réduire au maximum les importantes perturbations apportées en cours de titrage par le gaz carbonique.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ASHTON F.L., 1936. — *J. Agric. Sci.*, 26, 238.
2. BAKER P.R.W., 1961. — The micro-Kjeldahl determination of nitrogen. *Talanta*, 1961, 8, 57-71.
3. BRABSON J.A., W.G. BURCH and T.C. WOODIS, 1963. A critical evaluation of the reduced-iron method for reduction of nitrates. *Journal of the A.O.A.C.*, 46, 599-603.
4. BREMNER J.M., 1965. — In "methods of soil analysis", 2, 1149-1178. *Amer. Soc. Agron.*, Wisconsin, U.S.A.
5. EASTIN E.F., 1977. — Construction and use of a Kjeldahl digestion block. *Anal. Biochem.*, 83, 319-321.
6. EASTIN E.F., 1978. — Total nitrogen determination for plant material containing nitrate. *Anal. Biochem.*, 85, 591-594.
7. FORD O.W., 1956. — *Journal of the A.O.A.C.*, 39, 763-765.
8. FRIESEN D.K., M.H. MILLER and D.A. TEL, 1976. Nitrate reduction during Kjeldahl digestion of water samples by the perchlorate method. *Comm. soil, Sci. and Plant Anal.*, 7, 3, 311-317.
9. GALLAHER R.N., C.O. WELDON, and F.C. BOSWELL, 1976. — A semi-automated procedure for total nitrogen in plant and soil samples. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 40, 887-889.
10. GEHRKE C.W., B.M. BEAL and F.J. JOHNSON, 1961. — An improved reduced iron method for nitrogen applicable to all fertilizers. *Journal of the A.O.A.C.*, 44, 2, 239-245.
11. GEHRKE C.W. and F.J. JOHNSON, 1962. — *Journal of the A.O.A.C.*, 45, 46.
12. GUIRAUD G. et J.C. FARDEAU, 1977. — Dosage par la méthode Kjeldahl des nitrates contenus dans les sols et les végétaux. *Ann. Agron.*, 28, 329-333.
13. HAMBLETON L.G. and R.J. NOEL, 1975. — Protein analysis of feeds, using a block digester. *Journal of the A.O.A.C.*, 58, 1, 143-145.
14. HAMBRAEUS L., E. FORSUM, L. ABRAHAMSSON and B. LÖNNERDAL, 1976. — Automatic total nitrogen analysis in nutritional evaluations using a block digester. *Anal. Biochem.*, 72, 78-85.
15. KOLTHOFF I.M. and R. BELCHER, 1947. — In *Volumetric Analysis*. Vol. II Titration methods. *New-York Interscience Publishers*.
16. MIDDLETON G. and R.E. STUCKEY, 1951. — The standardisation of the digestion process in the Kjeldahl determination of nitrogen. *J. Pharm. Pharmacol.*, 3, 11, 829-842.
17. MOSSBERG R., 1978. — The Kjeldahl method, part I. In *Focus*, 3, 6-10 (*Publication TECATOR Höganäs, Suède*).
18. NELSON D.W. and L.E. SOMMERS, 1972. — *J. of Environ. Qual.*, 1, 423-425.
19. OLSEN C., 1929. — On the determination of nitrogen in soils. *Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg*, 17, 3, 1.
20. PUCHER G.W., C.S. LEAVENWORTH and H.B. VICKERY, 1930. — Determination of total nitrogen of plant extracts in presence of nitrates. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 2, 2, 191-193.
21. REXROAD P.R., 1971. — Effect of chloride/nitrate ratios on total nitrogen determinations. *Journal of the A.O.A.C.*, 54, 4, 990.
22. SCHUMAN G.E., M.A. STANLEY and D. KNUDSEN, 1973. — Automated total nitrogen analysis of soil and plant samples. *Soil. Sci. Soc. Amer. Proc.*, 37, 480-481.
23. SHUEY P.Mc.G., 1947. — Loss of nitrate nitrogen caused by chlorides. *Anal. Chem.*, 19, 882-883.

24. TECATOR AB Box 70 S-263 Ol Höganäs, Suède. Instruction Manual DS 6.
25. TEXIER, 1943. — Thèse Doct. Pharm., Montpellier.
26. TINGVALL, 1978. — Determination of nitrogen with copper as catalyst for high-temperature digestion. *Analyst*, 103, 406-409.
27. ULSCH K., 1891. — *Z. Anal. Chem.*, 30, 175.
28. WALL L.L.Sr and C.W. GEHRKE, 1975. — An automated total protein nitrogen method. *Journal of the A.O.A.C.*, 58, 6, 1221-1226.
29. WALL L.L. Sr. and C.W. GEHRKE, 1977. — Semi-automated method for total nitrogen in fertilizers. *Journal of the A.O.A.C.*, 60, 4, 881-889.

## SUMMARY

*The determination of nitrogen in the cotton plant raises difficulties related to the presence of large quantities of chlorides and nitrates in some of its organs.*

*The prior reduction of the nitrate fraction by iron in a dilute sulphuric acid medium gives a very appreciably improved results, as compared with those*

*obtained with the conventional Kjeldahl mineralization method, and is not affected by high chloride contents.*

*This method has been tested here, using a heating unit and a semi-automatic distillation apparatus. The procedure is described in detail, as also a complete study on the digestion conditions.*

## RESUMEN

*La dosificación del nitrógeno en el algodónero presenta algunas dificultades vinculadas con la presencia, en ciertos órganos, de cantidades importantes de cloruros y nitratos.*

*La reducción previa de la fracción nítrica por el hierro en medio sulfúrico diluido, conduce a un mejoramiento muy sensible de los resultados obte-*

*nidos por la mineralización Kjeldahl tradicional y no es afectada por los altos contenidos de cloruros.*

*Este método ha sido probado aquí mediante un bloque calentante y una unidad de destilación semiautomática. Su puesta en aplicación se expone detalladamente, así como un estudio completo de las condiciones de digestión.*